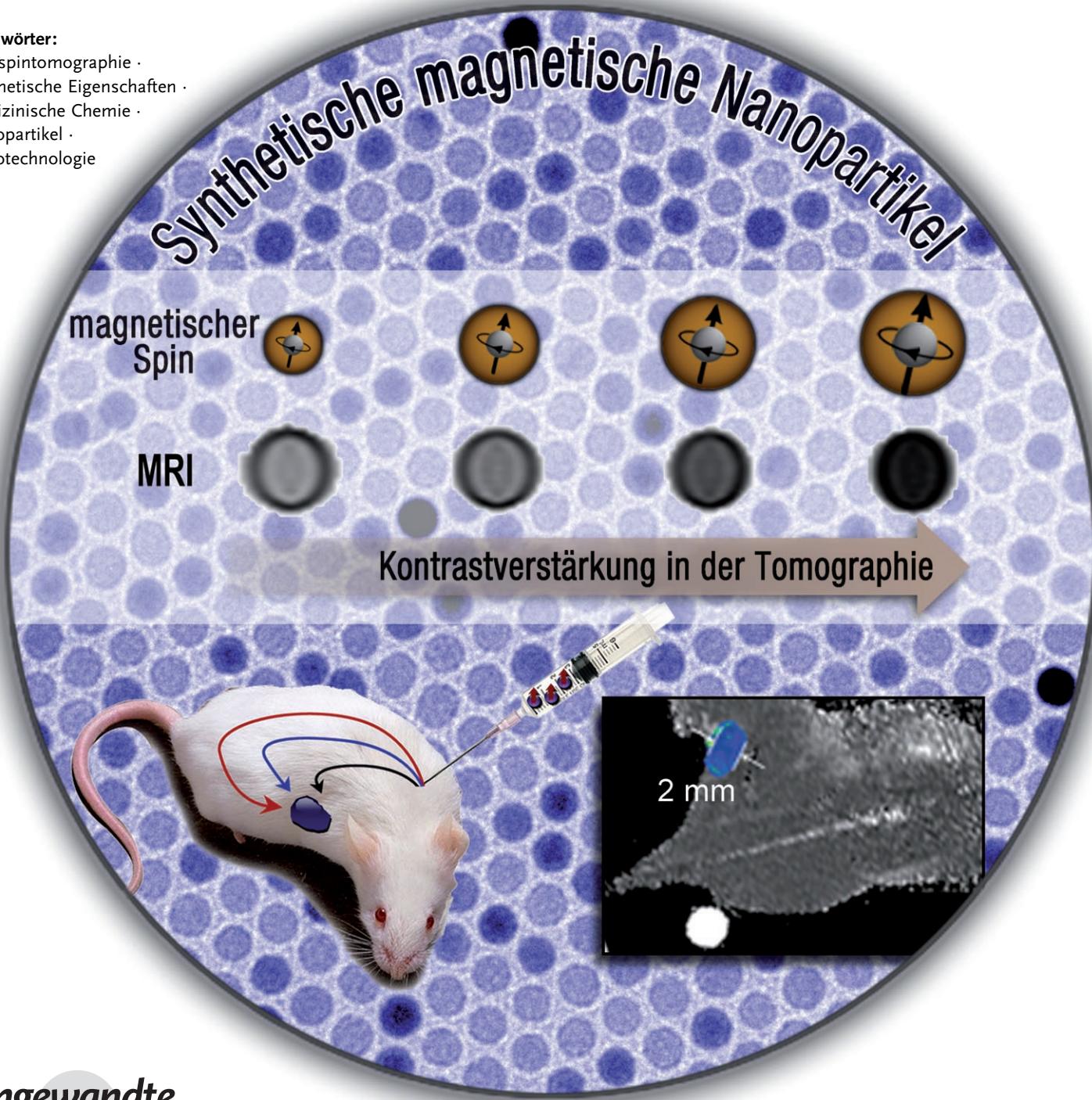


Chemisches Design von leistungsfähigen Nanosonden für die Kernspintomographie

Young-wook Jun, Jae-Hyun Lee und Jinwoo Cheon*

Stichwörter:

Kernspintomographie ·
Magnetische Eigenschaften ·
Medizinische Chemie ·
Nanopartikel ·
Nanotechnologie



Synthetische magnetische Nanopartikel (MNP) werden in der Biomedizin immer häufiger als Sonden eingesetzt. Dies gilt besonders für die Anwendung in der Kernspintomographie (Magnetic Resonance Imaging, MRI). Diese Nanopartikel sind von ähnlicher Größe wie biologische Funktionseinheiten. Deshalb und wegen ihrer einzigartigen magnetischen Eigenschaften eignen sie sich zur molekularen Bildgebung. Dieser Aufsatz gibt einen Überblick zu neuartigen MNP-Sonden, mit denen biologische Ereignisse auf molekularer und zellulärer Ebene empfindlich und spezifisch nachgewiesen werden können.

1. Einleitung

Die Entwicklung von biomedizinischen Aufnahmeverfahren wie der Computertomographie (CT), optischen Bildgebungsverfahren und der Kernspintomographie hat die Diagnose und Therapie von Krankheiten deutlich erleichtert.^[1–3] Die meisten biologischen Vorgänge laufen auf molekularer und zellulärer Ebene ab. Das Verständnis dieser Vorgänge wird aber dadurch eingeschränkt, dass ihre Aufzeichnung in Echtzeit schwierig ist.

Anorganische Nanopartikel könnten hier zur Aufklärung beitragen, denn die Bildgebung mit diesen Sonden stützt sich nicht länger auf anatomische Merkmale, sondern auf molekulare Abläufe.^[4–9] Nach der Konjugation mit ausgewählten Biomolekülen können diese winzigen, 1–100 nm großen Sonden durch die Blut- oder Lymphgefäß des menschlichen Körpers zirkulieren^[10,11] und das Ziel anhand spezifischer biologischer Wechselwirkungen wie denen zwischen Antikörper und Antigen,^[4,6,7,12,13] einer Nucleinsäurehybridisierung^[14–18] oder Genexpression erkennen.^[19–21]

In den vergangenen zwanzig Jahren wurden der Natur entlehnte oder in wässriger Phase synthetisierte Eisenoxid-Nanopartikel in der Kernspintomographie als Kontrastmittel eingesetzt. Dazu zählen dextranbeschichtetes superparamagnetisches Eisenoxid (Super-Paramagnetic Iron Oxide, SPIO) und ähnliche Nanopartikel, z.B. vernetztes Eisenoxid (Cross-Linked Iron Oxide, CLIO), Feridex, Resovist und Combidex (Tabelle 1).^[7,8] Einige dieser Nanopartikel werden mittlerweile klinisch bei der „anatomischen“ Kernspintomographie zur Kontrastverstärkung^[22,23] und auch zur molekularen Bildgebung verwendet.^[21,24] Um den Kontrast der Aufnahmen zu verbessern und Fortschritte bei der molekularen Bildgebung zu erzielen, wurden neuartige magnetische Nanopartikel (MNPs) entwickelt, die auf der Oberfläche viel-

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	5201
2. Synthese leistungsfähiger MNP-Sonden	5202
3. Molekulare und zelluläre Kernspintomographie	5207
4. Multimodale molekulare Bildgebung mit magnetischen Hybridnanopartikeln	5210
5. Schlussfolgerungen	5211

Tabelle 1: Kontrastmittel und Nanopartikel für die Kernspintomographie.

Name	Größe des magnetischen Kerns [nm]	Gesamtgröße [nm]	Beschichtung	$r2^{[a]}$ [$\text{mM}^{-1} \text{s}^{-1}$]	B [T]
Konventionelle MNPs					
AMI-25 (Feridex, Endorem) ^[51]	5–6	80–150	Dextran	ca. 100	0.47
SHU 555A (Resovist) ^[52]	ca. 4.2	ca. 62	Carbodextran	151	0.47
AMI-227 (Combidex, Sinerem) ^[53]	4–6	20–40	Dextran	53	0.47
CLIO, MION ^[54]	ca. 2.8	10–30	Dextran	ca. 69	1.5
Neuartige synthetische MNPs					
Fe_3O_4 (MEIO) ^[38]	12	15	DMSA	218	1.5
MnFe_2O_4 (MnMEIO) ^[38]	12	15	DMSA	358	1.5
FeCo ^[39]	7	30	Kohlenstoff und Phospholipid-Poly(ethylenglycol)	644	1.5

[a] Die $r2$ -Werte sind Literaturwerte, die von der Feldstärke, dem Messverfahren und der Pulsfolge abhängen können.

seitigere Gruppen tragen. Mithilfe eines besseren Herstellungsverfahrens über eine nichthydrolytische thermische Zersetzung können die wichtigsten Parameter der MNPs – Größe, magnetische Dotierung, magnetokristalline Phase und Oberflächenzustände^[25–36] – nun bei der Synthese gesteuert werden. Daher sind nun gezielt Nanopartikel zugänglich, die einen starken Magnetismus aufweisen und konventionelle Kontrastmittel für die Kernspintomographie übertreffen.^[37–42] Wir geben hier einen Überblick über das Design neuartiger MNP-Sonden, wobei wir uns auf zwei repräsentative Typen konzentrieren: Eisenoxid-haltige MNPs und magnetische Nanopartikel aus Metalllegierungen. Ferner gehen wir auf die folgenden Punkte ein: 1) die Kontrastverstärkung in der To-

[*] Dr. Y.-w. Jun, J.-H. Lee, Prof. J. Cheon
Department of Chemistry
Yonsei University, Seoul 120-749 (Korea)
Fax: (+82) 2-364-7050
E-Mail: jcheon@yonsei.ac.kr

mographie durch Kontrolle des magnetischen Kerns der Nanoteilchen (Abbildung 1a), 2) den Aufbau einer Ligandenschale um den Kern, um stabile und biokompatible Kolloide zu erhalten (Abbildung 1b), 3) Nanopartikel für molekulare oder zelluläre Ziele (Abbildung 1c) und 4) die Kernspintomographie von Carcinomen, Angiogenese, Zellwanderung und Therapie (Abbildung 1d).

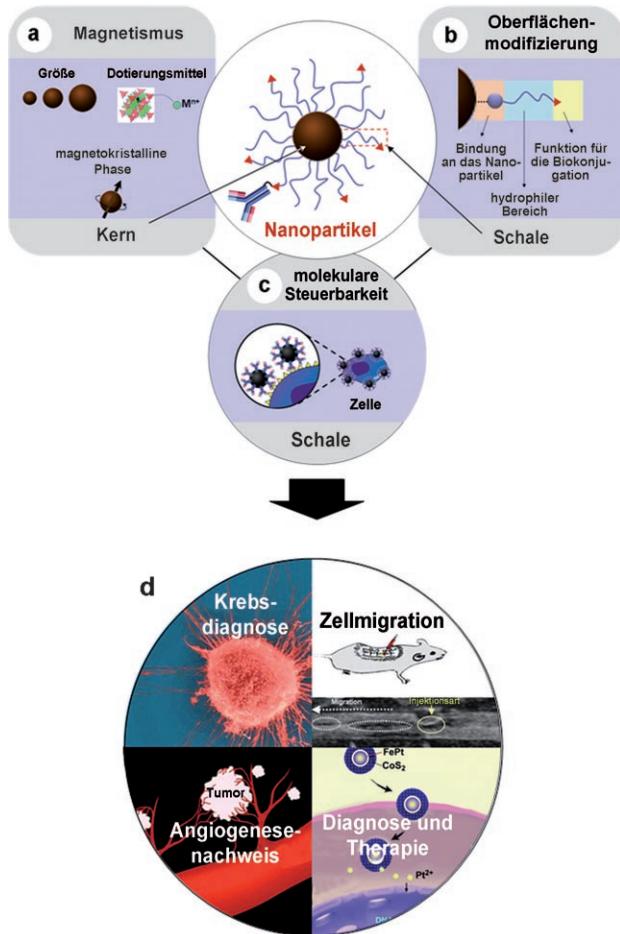


Abbildung 1. Neuartige magnetische Nanopartikel (MNP) für die molekulare und zelluläre Kernspintomographie (MRI). a) Entwicklung von Nanopartikeln mit magnetischem Kern. b) Aufbau einer Ligandenschale auf der Oberfläche der Nanopartikel. c) Steuerung mit Biomolekülen gekoppelter Nanopartikel. d) Anwendung von Nanopartikeln in der molekularen und zellulären Kernspintomographie.



Jinwoo Cheon studierte an der Yonsei University und promovierte an der University of Illinois, Urbana-Champaign (1993). Nach Postdoktoraten an der U.C. Berkeley und der UCLA wechselte er an das KAIST, wo er zunächst Assistant Professor und später Associate Professor wurde, bevor er 2002 an die Yonsei University zurückkehrte. Er ist Direktor des Convergence Nanomaterials National Research Laboratory und der Nanomaterials Division des Nano-Medical National Core Research Center of Korea. Seine Forschungsinteressen umfassen funktionelle anorganische Nanopartikel für Biologie, Medizin und Energietechnik.

2. Synthese leistungsfähiger MNP-Sonden

2.1. Kontrastverstärkung in der Kernspintomographie

2.1.1. Grundlagen der Kontrastverstärkung

Beim Anlegen eines Magnetfelds (B_0) wird in superparamagnetischen Nanopartikeln ein magnetisches Dipolmoment μ induziert. Diffundieren nun Wassermoleküle in den „Randbereich“ dieses Dipolmoments, wird die magnetische Relaxation der Protonen gestört und die Spin-Spin-Relaxationszeit (T_2) kürzer. Dies führt bei T_2 -gewichteten MRI-Aufnahmen zu einer dunkleren Färbung der entsprechenden Bildbereiche (Abbildung 2). Die Stärke dieses T_2 -Kontrasteffekts wird gewöhnlich durch die Spin-Spin-Relaxivität R_2 ($R_2 = 1/T_2$) wiedergegeben, wobei größere Werte von R_2 für einen stärkeren Kontrasteffekt stehen. Der Relaxivitätskoeffizient r_2 , die Steigung der Kurve bei einer Auftragung von R_2 gegen die Molarität der magnetischen Atome, ist ein normalisiertes Maß für die Kontrastverstärkung.

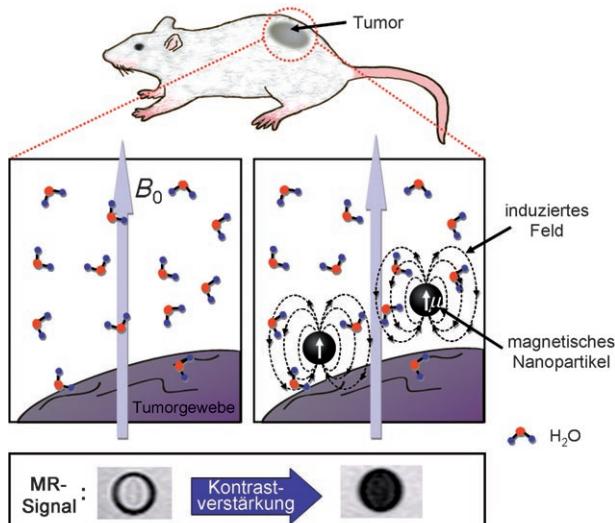


Abbildung 2. Der Einfluss magnetischer Nanopartikel auf den Kontrast in kernspintomographischen Aufnahmen. In einem äußeren Magnetfeld (B_0) werden die Nanopartikel magnetisiert und weisen dann ein magnetisches Moment μ auf. Dieses induziert ein Magnetfeld, das die Relaxation der Spins der Wasserprotonen stört. Daraus resultiert eine Kontrastverstärkung in den Kernspintomographien, die sich in einer Dunkelfärbung der betreffenden Bildteile äußert.



Young-wook Jun studierte an der Yonsei University und promovierte am Korea Advanced Institute of Science and Technology (KAIST; 2005) über Synthese und Bildungsmechanismus anorganischer Nanokristalle unter der Anleitung von Prof. Sang Youl Kim und Prof. Jinwoo Cheon. Anschließend untersuchte er an der Yonsei University magnetische Nanopartikel für biologische Ziele. Zurzeit beschäftigt er sich als Postdoktorand bei Prof. Paul Alivisatos an der U.C. Berkeley mit Einzelmolekülspektroskopie. Er wurde mit dem Honorable Mention Award of the IUPAC Prize for Young Chemists (2005) ausgezeichnet.

In diesem Randbereichsrelaxationsmodell für gelöste magnetische Nanopartikel ergibt sich der R_2 -Wert des Protons nach Gleichung (1).^[43]

$$R_2 = \frac{1}{T_2} = \left(\frac{32\pi}{405} \right) \gamma_I^2 \mu^2 \frac{N_A}{1000} \left(\frac{[M]}{rD} \right) \{6.5 j_2(\omega_s) + 1.5 j_1(\omega_l) + 2 j_1(0)\} \quad (1)$$

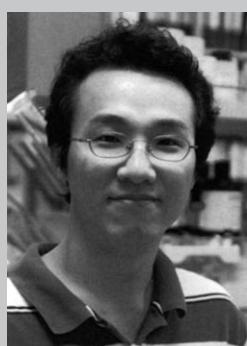
$$j_n(\omega, \tau, \tau_{sn}) = \operatorname{Re} \left(\frac{1 + \frac{1}{4}(i\omega\tau + \tau/\tau_{sn})^{1/2}}{1 + (i\omega\tau + \tau/\tau_{sn})^{1/2} + \frac{4}{9}(i\omega\tau + \tau/\tau_{sn}) + \frac{1}{9}(i\omega\tau + \tau/\tau_{sn})^{3/2}} \right)^2$$

Hier sind γ_I das gyromagnetische Verhältnis der Protonen in Wasser, M die Molarität der magnetischen Nanopartikel, r ihr Radius, N_A die Avogadro-Zahl, μ das magnetische Moment der Nanopartikel und ω_s und ω_l die Larmor-Frequenzen der Präzession des elektrischen Moments der Nanoteilchen bzw. des magnetischen Moments der Protonen in den Wassermolekülen. In den spektralen Dichtefunktionen $j_n(\omega, \tau)$ ist Re der Realteil des Klammerausdrucks und $\tau (= r^2/D)$ die Zeitskala der Fluktuationen der magnetischen Dipolwechselwirkung zwischen den Partikeln und den Wassermolekülen (die aus einer Diffusion (D) der Partikel relativ zu den Wassermolekülen resultiert). τ_{s1} und τ_{s2} schließlich sind die Lebensdauern der longitudinalen und transversalen Komponenten von μ .^[43]

Das Ziel der Entwicklung sollten Nanopartikel mit einem Magnetismus sein, der zu einem Maximalwert von R_2 führt. Wegen der engen Beziehung zwischen R_2 und dem magnetischen Moment (μ) und der Relaxation des Spins (τ_{s1}, τ_{s2}) kann eine Maximierung von μ bei der Synthese der Nanopartikel günstig sein. μ hängt von der Größe, Zusammensetzung und magnetokristallinen Phase der Nanoteilchen ab. Die Lebensdauern der longitudinalen und transversalen Komponenten von μ sind durch die magnetokristalline Phase der Nanopartikel festgelegt. Durch eine präzise Modulation dieser Parameter lassen sich daher MNPs erhalten, deren kontrastverstärkende Wirkung in der Tomographie maximal ist (Abbildung 3).

2.1.2. Synthese magnetischer Nanopartikel

Synthetische magnetische Nanopartikel von hoher Qualität werden gewöhnlich durch die thermische Zersetzung von Metallkomplexen in heißen, nicht hydrolysierenden organischen Lösungsmitteln in Gegenwart von Tensiden erhalten.



Jae-Hyun Lee schloss 2003 den B.S. an der Yonsei University ab. Er beschäftigt sich zurzeit als Doktorand in der Arbeitsgruppe von Prof. Jinwoo Cheon mit der Herstellung bioaktivierbarer magnetischer Hybridnanopartikel für die molekulare Bildgebung und Therapie. Er wurde 2004 mit einem Korea Research Foundation Fellowship und 2005 mit einem Seoul Science Fellowship ausgezeichnet.

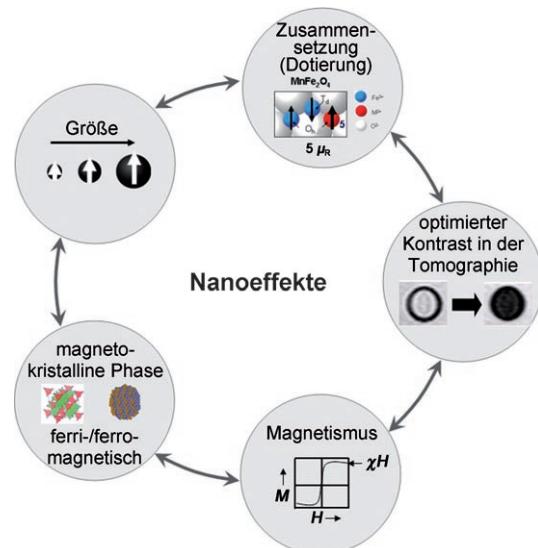


Abbildung 3. Wichtige Parameter für die Kontrastverstärkungseigenschaften von MNPs.

Dabei entstehen Monomere, die in der übersättigten Lösung aggregieren. So werden die Keimbildung und das anschließende Wachstum der Nanopartikel induziert.^[44-48] Durch eine geeignete Wahl der Wachstumsparameter – Monomerkonzentration, kristalline Phase des Kerns, Lösungsmittel und Tensid, Temperatur und Zeit sowie Oberflächenenergie – können Größe, Zusammensetzung und magnetokristalline Phase der MNPs gesteuert werden. Es gibt zahlreiche Berichte über die Synthese von Metallferrit-Nanopartikeln aus Eisenpentacarbonyl, Eisencupferron, Eisentris(2,4-pentadio nat) und Eisen-Fettsäure-Komplexen in heißen organischen Lösungsmitteln, die Fettsäuren und Amine als Tenside enthalten.^[25,26,28,29,31] Die Größe der Nanopartikel kann zwischen 4 und ca. 50 nm mit einer Auflösung von 1–3 nm eingestellt werden. Über Einzelheiten der Herstellung magnetischer Nanopartikel ist bereits früher berichtet worden.^[32,35,44]

2.1.3. Einfluss der Größe magnetischer Nanopartikel

In einer makroskopischen Probe sind im Idealfall alle Spins parallel zum äußeren Magnetfeld ausgerichtet. Im Nanometerbereich weicht die Orientierung der Spins an der Oberfläche dagegen meist leicht von dieser Anordnung ab, und es entsteht eine magnetisch fehlgeordnete Schicht mit Spinglas-Eigenschaften (Abbildung 4a).^[49] Daher hängen, wie auch nach Gleichung (1) zu erwarten, die magnetischen Momente und die Kontrastverstärkung stark von der Größe der MNPs ab. Dies wird an Eisenoxid-Nanopartikeln mit definiertem Magnetismus deutlich (Magnetism-engineered Iron Oxide, MEIO): Fe_3O_4 -Nanopartikel mit 4, 6, 9 und 12 nm Größe weisen Magnetisierungswerte von 25, 43, 80 bzw. 101 emu pro Gramm Fe auf (Abbildung 4b,c).^[37] Mit abnehmender Größe der Nanopartikel wird der Oberflächeneffekt immer größer und das magnetische Moment sinkt. Dies beeinflusst direkt den Kontrast in der Tomographie. Der Koeffizient r^2 nimmt in obiger Reihe (von 4 bis 12 nm) von ca. 78 über 106 und 130 auf 218 $\text{mm}^{-1} \text{s}^{-1}$ zu. Entsprechend ändert

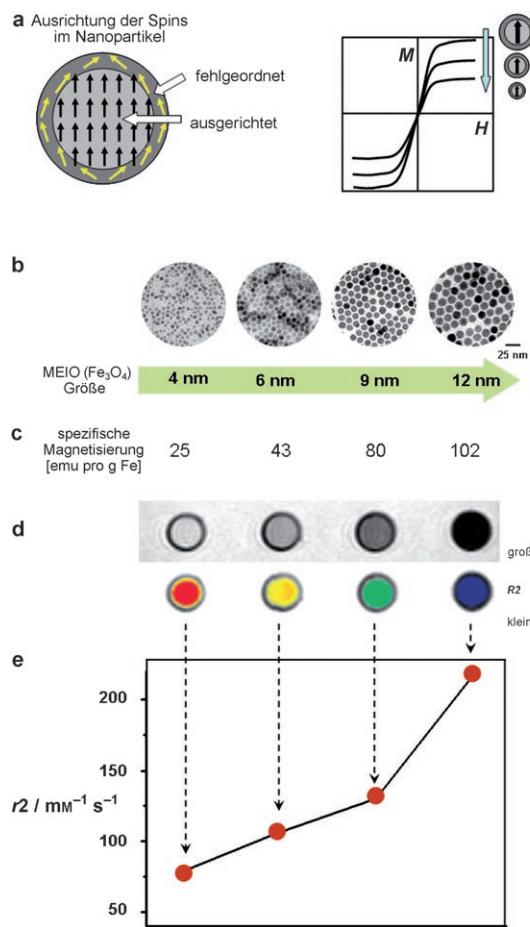


Abbildung 4. a) Abweichende Ausrichtung der Spins an der Oberfläche eines Nanopartikels bei Magnetisierung (M : magnetisches Moment, H : äußeres Magnetfeld). b)–e) Größeneffekte bei Fe_3O_4 (MEIO)-Nanopartikeln und ihre Auswirkung auf Magnetismus und Kontrast in kernspintomographischen Aufnahmen: b) Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen (TEM) von unterschiedlich großen MEIO-Nanopartikeln. c) Makroskopische Werte für die Magnetisierung. d) $T2$ -gewichtete Kernspintomographien (oben schwarz-weiß, unten farbcodiert). e) Relaxativitätskoeffizienten $r2$ der Nanopartikel in (a). Aus Lit. [37].

sich die Farbe von Hellgrau zu Schwarz (oder von Rot zu Blau in farbcodierten Aufnahmen, Abbildung 4d,e).

2.1.4. Magnetische Dotierung von Nanopartikeln

Auch Dotierungsmittel mit hoher magnetischer Suszeptibilität beeinflussen den Magnetismus von Nanopartikeln stark. Dies wird an MFe_2O_4 -Nanopartikeln deutlich, in denen Fe^{2+} -Ionen durch andere zweiwertige Übergangsmetall-Ionen M^{2+} ersetzt wurden ($\text{M} = \text{Mn, Ni, Co}$).^[38] Ferrimagnetisches Fe_3O_4 weist eine inverse Spinellstruktur mit einer kubisch-flächenzentrierten Anordnung von Sauerstoffatomen auf, deren Tetraederlücken (T_d) von Fe^{3+} -Ionen und Oktaederlücken (O_h) von Fe^{3+} - und Fe^{2+} -Ionen besetzt werden. In einem äußeren Magnetfeld richten sich die magnetischen Spins der Ionen in den Oktaederlücken parallel zum äußeren Feld aus, diejenigen der Ionen den Tetraederlücken antiparallel (Abbildung 5a). Da Fe^{3+} -Ionen die

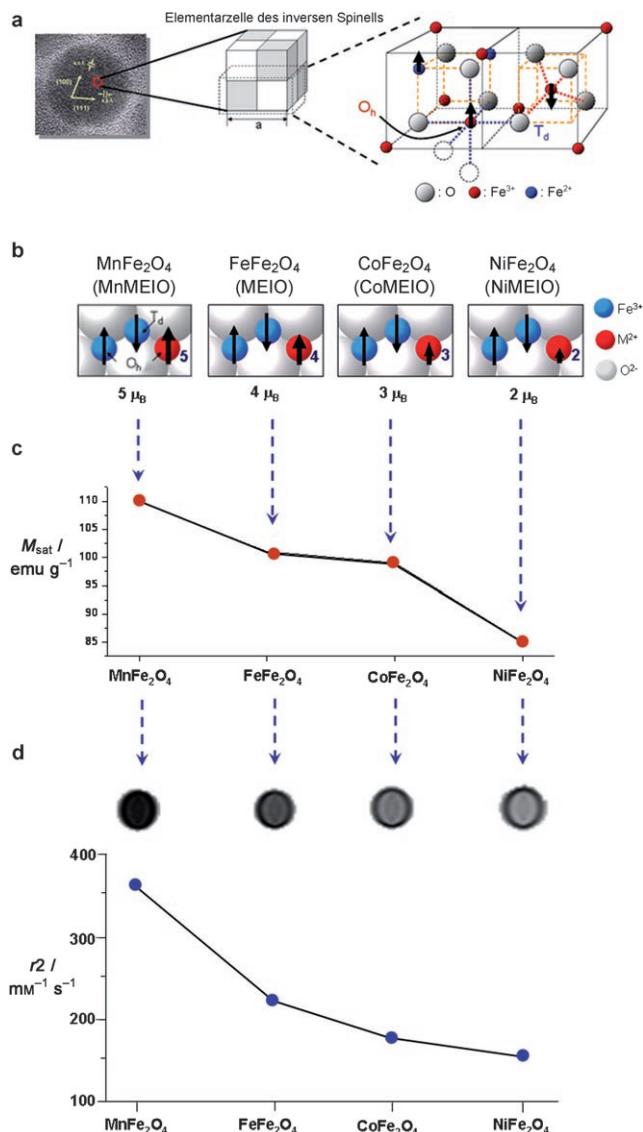


Abbildung 5. a) Ferrimagnetische Ferrit-Nanopartikel mit inverser Spinell-Struktur und Ausrichtung ihrer Spins. O_h : Oktaederlücke, T_d : Tetraederlücke. b) Ausrichtung der Spins in dotierten MEIO-Nanopartikeln MFe_2O_4 ($\text{M} = \text{Mn, Fe, Co, Ni}$) und c) Stärke ihrer makroskopischen Magnetisierung in Abhängigkeit vom Dotierungsmittel. d) Kontrastveränderung in den entsprechenden Kernspintomographien und Werte des Koeffizienten $r2$ (aus Lit. [38]).

Elektronenkonfiguration d^5 aufweisen und Fe^{2+} -Ionen die Konfiguration d^6 (high spin), beläuft sich das magnetische Gesamtmoment pro Formeleinheit $(\text{Fe}^{3+})_{\text{T}_d}(\text{Fe}^{2+}\text{Fe}^{3+})_{\text{O}_h}\text{O}_4$ auf 4 μ_B .^[50]

Auf der Grundlage ihrer Elektronenkonfigurationen lassen sich die magnetischen Momente pro Formeleinheit für MnFe_2O_4 , CoFe_2O_4 und NiFe_2O_4 zu etwa 5 μ_B , 3 μ_B bzw. 2 μ_B abschätzen (Abbildung 5b).^[50] Bei Messungen der spezifischen Magnetisierung wird der Einfluss des Dotierungsmittels deutlich. Die spezifische Magnetisierung ist am größten für Nanopartikel aus MnFe_2O_4 (110 emu pro Gramm (Mn,Fe)) und nimmt über FeFe_2O_4 (101 emu pro Gramm Fe) und CoFe_2O_4 (99 emu pro Gramm (Co,Fe)) zu NiFe_2O_4 ab (85 emu pro Gramm (Ni,Fe), Abbildung 5c).^[38]

Bei Einsatz dieser dotierten MEIO-Nanopartikel nimmt der Kontrast in Kernspintomographien deutlich zu.^[38] Der Effekt ist dabei für *T*2-gewichtete Aufnahmen bei MnFe_2O_4 (MnMEIO) am stärksten. Der Wert des Koeffizienten $r2$ beträgt hier $358 \text{ mm}^{-1}\text{s}^{-1}$ – bei FeFe_2O_4 (MEIO), CoFe_2O_4 (CoMEIO) und NiFe_2O_4 (NiMEIO) sind es nur 218 , 172 bzw. $152 \text{ mm}^{-1}\text{s}^{-1}$ (Abbildung 5d) – und ist mehr als doppelt so groß wie die Koeffizienten für SPIO und andere Kontrastmittel (Tabelle 1). Dieser stärkere Effekt der neuartigen magnetischen Nanopartikel ist beispielsweise vorteilhaft für MRI-Aufnahmen kleinerer Carcinome (siehe Abschnitt 3).

2.1.5. MNPs aus Legierungen

Auch aus Legierungen wie FeCo und FePt wurden magnetische Nanopartikel hergestellt.^[32,33,35,55] In diesen Nanopartikeln richten sich alle Spins parallel zum äußeren Magnetfeld aus, daher sind die magnetischen Momente meist größer als für ferrimagnetische Nanopartikel. So beträgt das magnetische Moment der Legierung FeCo ungefähr $2.4 \mu_B$ pro magnetischem Atom, das von Fe_3O_4 nur ca. $1.3 \mu_B$ pro magnetischem Atom.^[56] Legierungs-MNPs sollten sich daher ausgezeichnet als Sonden für die Kernspintomographie eignen. Beispielsweise wurden 7 nm große FeCo-Nanopartikel entwickelt, die durch eine Graphitschale passiviert sind (Abbildung 6a).^[39] Die Beschichtung der Nanopartikel mit Phospholipid-Poly(ethylenglycol) (PL-PEG) verleiht ihnen kolloidale Stabilität in wässrigen Medien (Abbildung 6b). Diese CoFe-MNPs weisen eine sehr hohe Magnetisierung von 215 emu pro Gramm Metall auf (Abbildung 6c), und der Koeffizient $r2$ ist mit $644 \text{ mm}^{-1}\text{s}^{-1}$ erheblich größer als für SPIO-Kontrastmittel wie Feridex (ca. $100 \text{ mm}^{-1}\text{s}^{-1}$).^[39] Solche magnetischen Nanopartikel wurden erfolgreich zur In-vitro-Zellmarkierung und für die *T*1-gewichtete In-vivo-Kernspintomographie des Blutkreislaufs eingesetzt (siehe Abschnitt 3 und Lit. [57,58] für Übersichten zu *T*1-Agentien).

2.2. Kolloidale Stabilität und Biokompatibilität durch Oberflächenliganden

Nicht durch Hydrolyseverfahren synthetisierte magnetische Nanopartikel sind gewöhnlich mit hydrophoben Liganden beschichtet. Um MNPs mit hoher kolloidaler Stabilität in wässrigen biologischen Lösungen zu erhalten und eine Aggregation unter physiologischen Bedingungen zu vermeiden, müssen diese Liganden gegen geeignete ausgetauscht werden. Der hydrodynamische Durchmesser der Nanopartikel – die scheinbare Größe eines dynamisch hydratisierten/solvatisierten Teilchens – ist eng verknüpft mit der Fähigkeit, das biologische Abwehrsystem und vaskuläre Barrieren zu überwinden. So werden MNPs mit einem großen hydrodynamischen Durchmesser (ab etwa 100 nm) leicht von Phagocyten gefressen,^[59] kleinere (1 – 30 nm) werden dagegen nicht aufgenommen und können mit hinreichend langer Halbwertszeit zirkulieren ($>1 \text{ h}$, Abbildung 7a).^[60] Diese relativ kleinen Nanopartikel können verstärkt in das Zielgewebe eindringen und sich dort anreichern, weil sie leicht die größeren Fenestrationen der Blutgefäße (100 nm bis einige

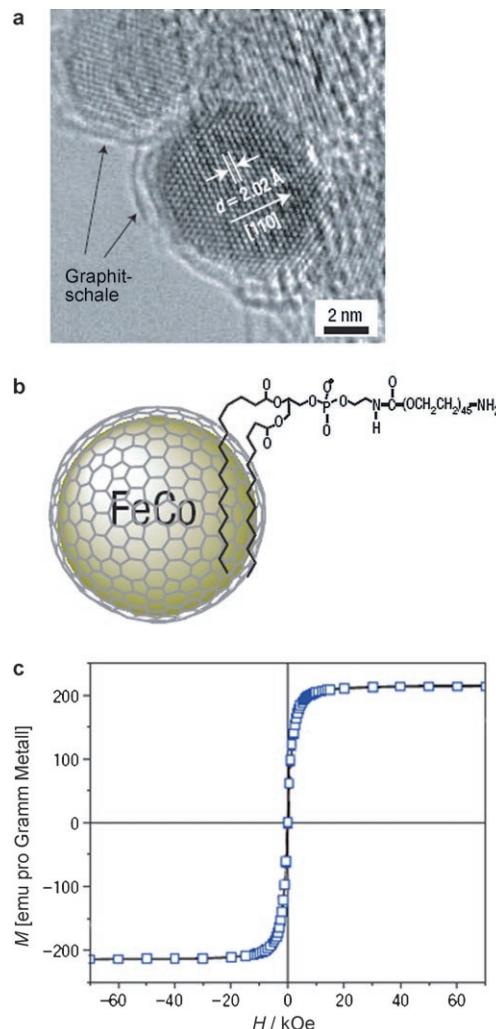


Abbildung 6. Neuartige synthetische FeCo-Nanopartikel. a) TEM-Aufnahme. b) Schematische Darstellung der Ligandenschicht. c) Hystereseschleife für 7 nm große FeCo-Nanopartikel (aus Lit. [39]).

um) in der Umgebung von Krebsgewebe passieren können (Abbildung 7a).^[61,62] In letzter Zeit wurden mehrere Strategien zur Einführung von Liganden auf magnetischen Nanopartikeln entwickelt (Abbildung 7b). Durch Prozesse an der Oberfläche und die Anlagerung von Biomolekülen kann sich die Größe der Nanopartikel ändern. Daher muss zunächst die optimale Größe ermittelt werden, bei der die $R2$ -Werte groß sind, die Halbwertszeit im Blut aber gleichzeitig hoch.

2.2.1. Beschichtung mit difunktionellen Liganden^[42,63–69]

Bei den ersten Untersuchungen zur Überführung von Nanopartikeln von organischen in wässrige Medien wurden kleine difunktionelle Liganden eingesetzt,^[63–65] die typischerweise aus zwei Teilen bestanden: einem, der sich an die MNP-Oberfläche bindet, und einem hydrophilen Teil, der mit dem wässrigen Medium in Kontakt steht. So lagert sich die Diol-einheit von Betainen an Eisenoxid-Nanopartikel an, und der Ammoniumrest am anderen Ende macht sie wasserlöslich.^[64]

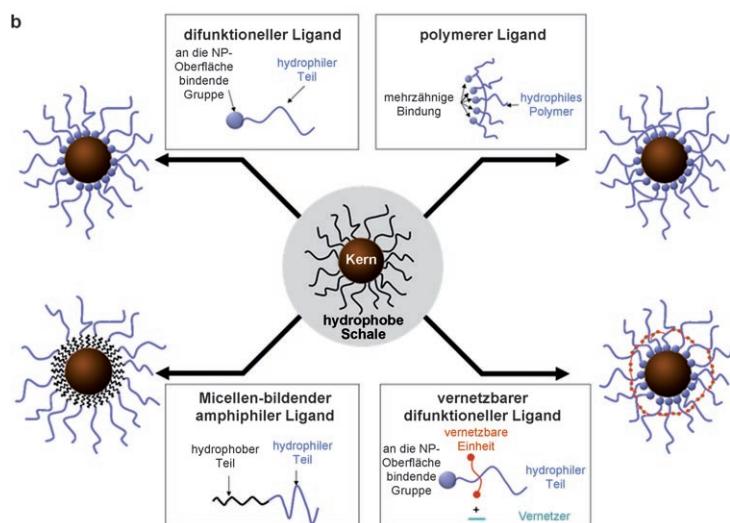
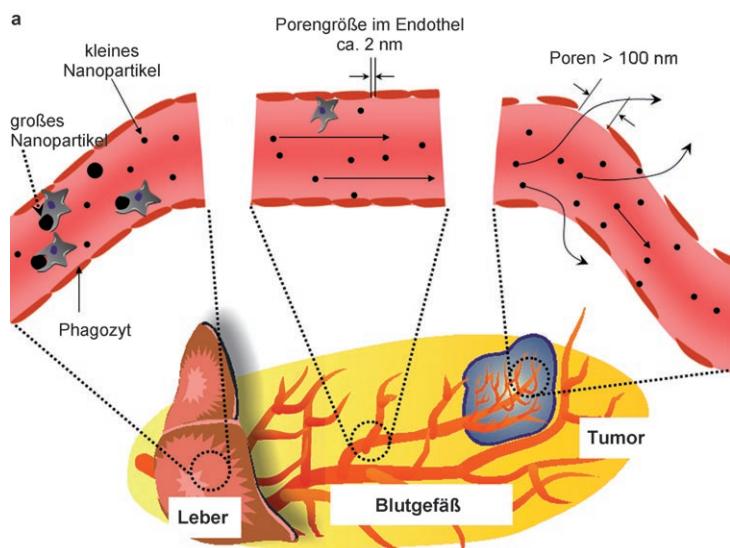


Abbildung 7. a) Verhalten von Nanopartikeln in Blutgefäßen von Leber, normalem Gewebe und Krebsgewebe. Synthetische MNPs haben den größten EPR-Effekt auf Krebszellen. b) Aufbau von MNPs mit hoher kolloidaler Stabilität durch Bindung geeigneter Liganden an der Oberfläche.

Polyethylenglycol-Einheiten als hydrophile Gruppen steigern die kolloidale Stabilität von Nanopartikeln.^[66–69] Beispielsweise bildeten FePt-^[66] oder Fe@Fe₃O₄-Nanopartikel^[66] nach der Einführung gemischter difunktioneller Liganden wie PEG-Thiol und PEG-Dopamin in Wasser stabile kolloidale Dispersionen (Abbildung 8).

2.2.2. Beschichtung mit mehrzähligen polymeren Liganden^[70–73]

Auch die Funktionalisierung mit mehrzähligen Liganden erhöht die kolloidale Stabilität in wässriger Lösung. So bildeten γ-Fe₂O₃-Nanopartikel, deren Oberfläche mit polymeren PEG-Phosphinoxid-Liganden beschichtet war, stabile Kolloide (Abbildung 9a,b).^[70]

Anorganische polymere Liganden wie Siloxane wurden ebenfalls eingesetzt. Durch eine Sol-Gel-Reaktion wurden Eisenoxid-Nanopartikel in einer Mikroemulsion mit einer

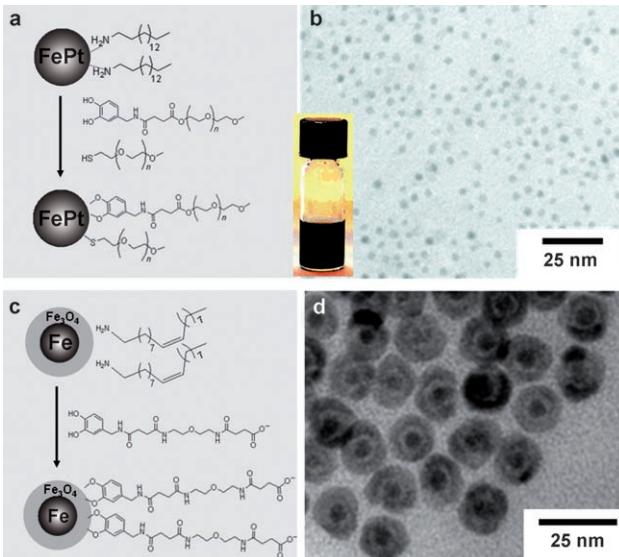


Abbildung 8. Nanopartikel mit difunktionellen Liganden. a) Austausch der Liganden an hydrophoben FePt-Nanopartikeln gegen eine Mischung aus Polyethylenglycol(PEG)-Dopamin- und PEG-SH-Liganden. b) TEM-Aufnahme der erhaltenen wasserlöslichen FePt-Nanopartikel. Einschub: Wässrige Lösung von FePt-Nanopartikeln. c) Ligandenaustausch an Fe@Fe₃O₄-Nanopartikeln mit PEG-Dopamin. d) TEM-Aufnahme wasserlöslicher Fe@Fe₃O₄-Nanopartikel (aus Lit. [66, 67]).

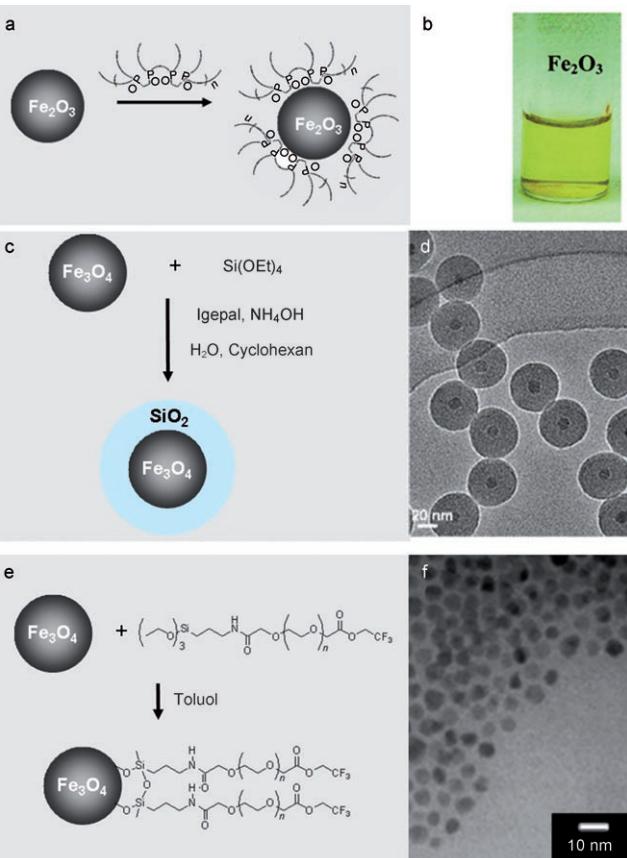


Abbildung 9. a,b) Syntheseschema und Prüfung der Wasserdurchlässigkeit von Fe₂O₃-Nanopartikeln, die mit mehrzähligen polymeren Liganden beschichtet wurden (aus Lit. [70]). c) Syntheseschema und d) TEM-Aufnahme mit SiO₂ beschichteter Fe₃O₄-Nanopartikel. e) Syntheseschema und f) TEM-Aufnahme wasserlöslicher Fe₃O₄-Nanopartikel mit PEG-Siloxan-Liganden (aus Lit. [72, 73]).

Siliciumdioxidhülle umgeben (Abbildung 9 c,d).^[71,72] Die Einführung von PEG-Liganden mit Triethoxysilyl-Endgruppen verlieh hydrophob beschichteten Eisenoxid-Nanopartikeln eine hohe kolloidale Stabilität in wässrigen Phasen (Abbildung 9 e,f).^[73]

2.2.3. Beschichtung mit amphiphilen Micellen^[74-80]

Nanopartikel mit hydrophoben Liganden können in wässrige Medien eingebbracht werden, wenn sie zuvor mit einer amphiphilen Beschichtung versehen wurden, die sowohl hydrophobe wie hydrophile Strukturteile enthalten. Dabei entstehen Micellen. Dieses Verfahren wurde ursprünglich für Quantenpunkte entwickelt,^[12,13] dann aber erfolgreich auf MNPs übertragen. So ziehen amphiphile Liganden wie Tetradecylphosphonat und PEG-2-tetradecylether auf die Oberfläche von Nanopartikeln auf, und es bilden sich Micellen.^[74] Dabei erhöhen die hydrophilen PEG-Gruppen die Löslichkeit in Wasser (Abbildung 10 a,b). Auch Eisenoxid-Nanopartikel lassen sich in Wasser lösen, nachdem sie durch amphiphiles PEG-Phospholipid^[75] oder Poly(maleinsäureanhydrid-*alt*-1-octadecen)-PEG-Blockcopolymere in Micellen überführt wurden.^[76] Der Einschluss mehrerer Nanopartikel in amphiphilen Micellen ist ebenfalls möglich. Wegen hydrophober Wechselwirkungen wurden mehrere Nanopartikel in Micellen eingeschlossen, die aus dem amphiphilen Polystyrol-polyacrylsäure-Blockcopolymer (PS-PAA) entstehen (Abbildung 10 c,d).^[77] In ähnlicher Weise bilden sich beim Verdampfen hydrophober Lösungsmittel aus einer Lösung, die Polylactid-PEG-Blockcopolymere enthält, Micellen von ca. 50 nm Größe, die eine hydrophile Außenseite und einen hydrophoben Innenraum aufweisen, in dem sich Nanopartikel befinden können (Abbildung 10 e,f).^[40]

2.2.4. Beschichtung mit vernetzbaren difunktionellen Liganden^[37,38,41]

Der Einsatz vernetzbarer niedermolekularer Substanzen liefert magnetische Nanopartikel mit stabilen Strukturen; der hydrodynamische Durchmesser nimmt dabei nur marginal zu. Der difunktionelle Ligand 2,3-Dimercaptobernsteinsäure steigert durch die Bildung von Chelatbindungen von den Carboxylatgruppen zu Fe_3O_4 -Nanopartikel die Stabilität des Kolloids (Abbildung 11 a).^[37,38,41] Die Struktur wird durch Disulfidbrücken zwischen den Liganden stabilisiert, und mit der verbleibenden freien Thiolgruppe kann eine Biokonjugation herbeigeführt werden. Lösungen dieser Nanopartikel in phosphatgepufferter Salzlösung (PBS, bis 250 mM NaCl) sind recht stabil (Abbildung 11 b). Der hydrodynamische Durchmesser des Nanoteilchens verändert sich dadurch nicht (ca. 13 nm, Abbildung 11 c), und dieser Wert ist niedrig genug für In-vivo-Anwendungen.

3. Molekulare und zelluläre Kernspintomographie

Die neuartigen magnetischen Nanopartikel ermöglichen also kernspintomographische Analysen mit stark erhöhtem Kontrast und weisen geeignete Liganden für eine Biokonju-

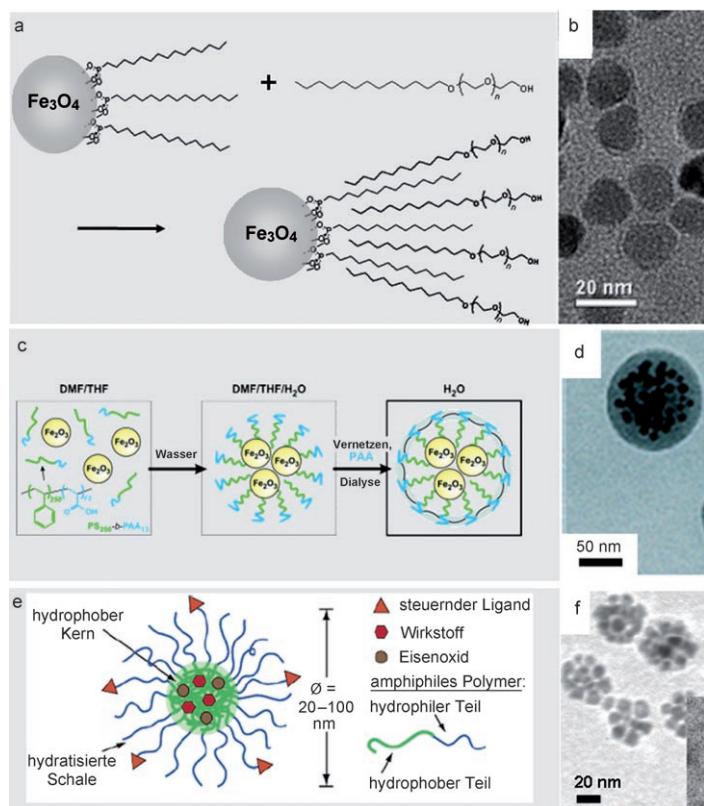


Abbildung 10. a) Micellenbildung um Fe_3O_4 -Nanopartikel durch Anlagerung amphiphiler PEG-Liganden. b) TEM-Aufnahme von wasserlöslichem Fe_3O_4 (aus Lit. [74]). c) Syntheseschema und d) TEM-Aufnahme von Micellen aus Polystyrol-Polyacrylsäure-Blockcopolymeren (PS-PAA), die mehrere Nanopartikel umschließen. e) Syntheseschema und f) TEM-Aufnahme von Micellen aus Poly(D,L-lactid)-PEG-Blockcopolymeren, die mehrere Nanopartikel und einen Wirkstoff enthalten (aus Lit. [40, 77]).

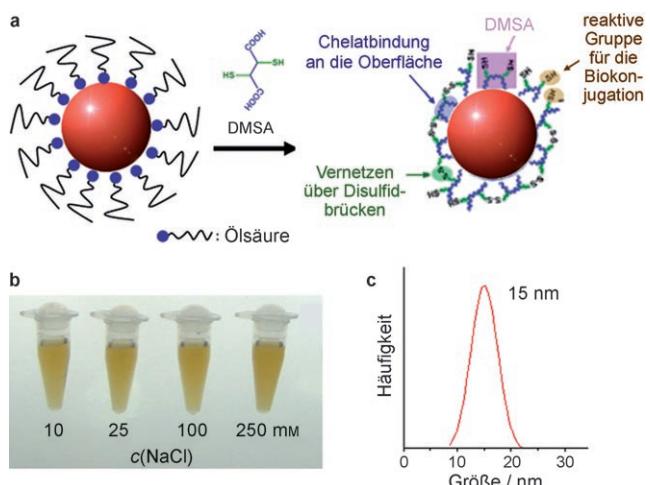


Abbildung 11. a) Ligandenaustausch an Fe_3O_4 -Nanopartikeln: vernetzbare difunktionelle 2,3-Dimercaptobernsteinsäure (DMSA)-Liganden ersetzen Ölsäure. b) Prüfung der kolloidalen Stabilität in NaCl-Lösung. c) Messwerte der dynamischen Lichtstreuung an DMSA-beschichteten Fe_3O_4 -Nanopartikeln (aus Lit. [37, 41]).

gation auf. Diese MNPs könnten daher das Potenzial haben, Zielgewebe in frühen Entwicklungsstadien nachzuweisen und

die zu seiner Bildung führenden Prozesse zu diagnostizieren. Wir berichten hier über die Erfolge beim Einsatz magnetischer Nanopartikel zur molekularen und zellulären Bildgebung. Weiterhin gehen wir kurz auf Fragen der Sicherheit von MNPs ein (einschließlich der Zytotoxizität).

3.1. Gewebespezifische molekulare Bildgebung

Magnetische Nanopartikel können nach der Kupplung mit geeigneten molekularen Sonden zum Nachweis von Krebs eingesetzt werden. Mit konventionellen Diagnoseverfahren wird die Krankheit bislang bei weniger als 15 % der Patienten in Stufe I oder II erkannt.^[81] MNPs mit stark kontraststeigender Wirkung könnten helfen, die Früherkennungsrate von Krebs zu erhöhen. So gelang mit Fe_3O_4 - (MEIO)-Nanopartikeln die molekulare Bildgebung von Brustkrebs. In Krebszellen dieses Typs wird der Wachstumsfaktor-Rezeptor HER2/neu (Human Epidermal Growth Factor Receptor 2) meist zu stark exprimiert.^[82] Mit Nanopartikeln mit einem r_2 -Wert von $218 \text{ mm}^{-1}\text{s}^{-1}$, die mit dem HER2/neu-spezifischen Antikörper Herceptin gekuppelt wurden, können die SK-BR-3-Brustkrebszelllinien nachgewiesen werden (Abbildung 12a).^[37] Ferner ist mit Fe_3O_4 -Herceptin-Sonden der höchst empfindliche In-vitro-Nachweis von Krebszellen möglich, weil diese Sonden auf alle

HER2/neu-positiven Krebszellen reagieren – auch auf Bx-PC-3-Zellen, die nur minimale Gehalte an HER2/neu aufweisen (Abbildung 12b).^[41]

Eine erhebliche Verbesserung bei der molekularen Bildgebung von Carcinomen gelang mit MnFe_2O_4 (MnMEIO)-Sonden ($r_2 = 358 \text{ mm}^{-1}\text{s}^{-1}$).^[38] Nach der intravenösen Injektion dieser Sonde in Mäuse wurden sehr kleine Tumore nachgewiesen (ca. 50 mg, Abbildung 12c), der Kontrast in den Aufnahmen änderte sich stark (R_2 -Änderung ca. 34 %; Abbildung 12d,e). Mit Fe_3O_4 -Herceptin-Sonden veränderte sich der Kontrast in Tumoren weniger stark (R_2 -Änderung ca. 12 %, Abbildung 12d,e). Unter den gleichen Bedingungen blieb das Tumorgewebe bei Einsatz konventioneller CLIO-Herceptin-Sonden unerkannt, der Wert von R_2 änderte sich hier nicht merklich (Abbildung 12d,e). Mit den neuartigen MNPs lassen sich Carcinome also höchst empfindlich nachweisen.

Auch Darmkrebs kann mithilfe von Fe_3O_4 -rch24-Antikörper-Konjugaten diagnostiziert werden.^[83] Erkannt werden dabei Zelllinien, die das embryogene Carcinogen-Antigen (Carcinoma Embryogenic Antigen, CEA) enthalten, die Zellen des Zielgewebes erscheinen in den Aufnahmen dunkel. Auch über den erfolgreichen In-vivo-Nachweis von Darmkrebs wurde berichtet (Abbildung 13a).

Mit FePt-Au-Nanopartikeln, die mit Hmemb1-Antikörpern konjugiert waren, wurden Neuroblastomzellen (CHP-

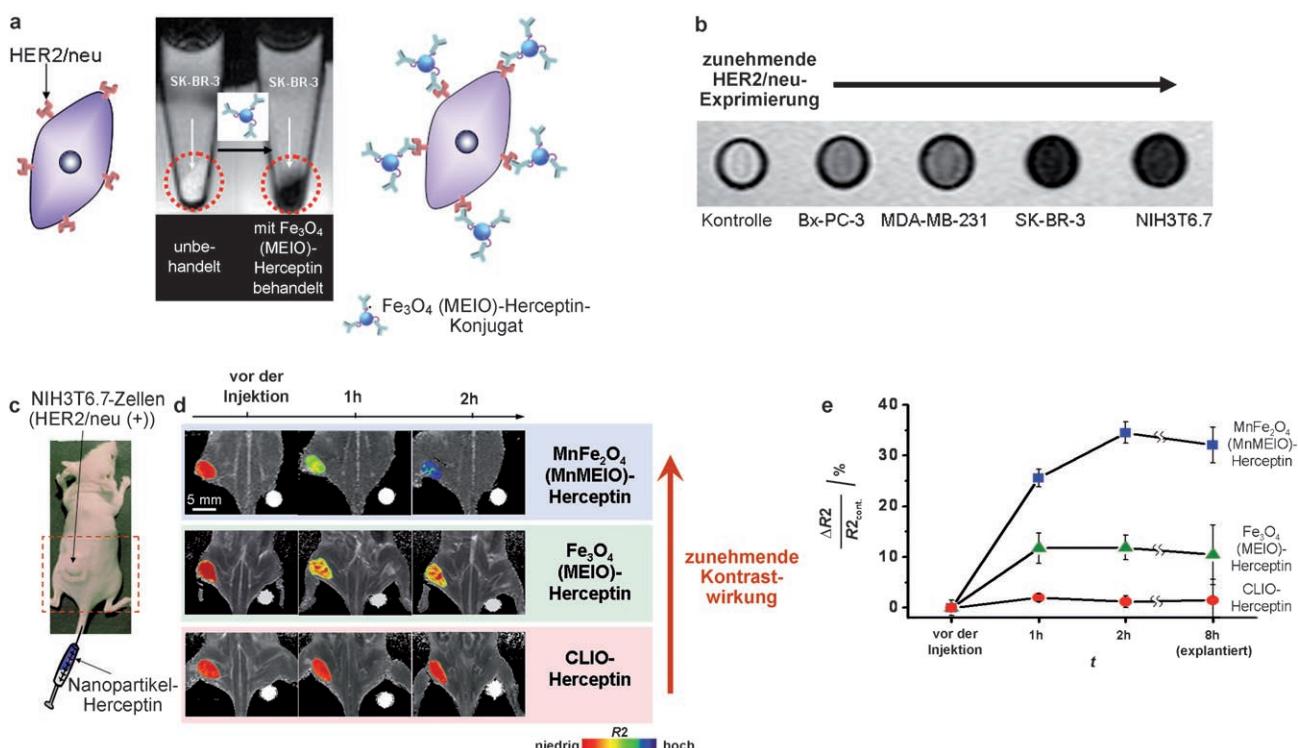


Abbildung 12. a) Kernspintomographischer In-vitro-Nachweis von HER2/neu-positiven Brustkrebszellen (SK-BR-3) durch Fe_3O_4 (MEIO)-Herceptin-Nanopartikel. b) Verstärkter Kontrast in Kernspintomographien von Krebszelllinien mit unterschiedlich starker Expression von HER2/neu (aus Lit. [37, 41]). c) Hoch empfindlicher In-vivo-Nachweis von Krebs mit MnFe_2O_4 (MnMEIO)-Herceptin-Nanopartikeln. c) Intravenöse Injektion von MEIO-Herceptin-Sonden in die Schwanzvene einer Maus, die im Bereich des Oberschenkelknochens nahe des Rumpfs ein kleines HER2/neu-positives Carcinom hat (ca. 50 mg). Zum Vergleich wurden auch MEIO-Herceptin- und CLIO-Herceptin-Sonden getestet. d) Farbige Kernspintomographien der Maus zu unterschiedlichen Zeiten nach der Injektion. e) Zeitliche Veränderung der R2-Werte am Krebsherd nach der Injektion der Sonden. Nach Lit. [38].

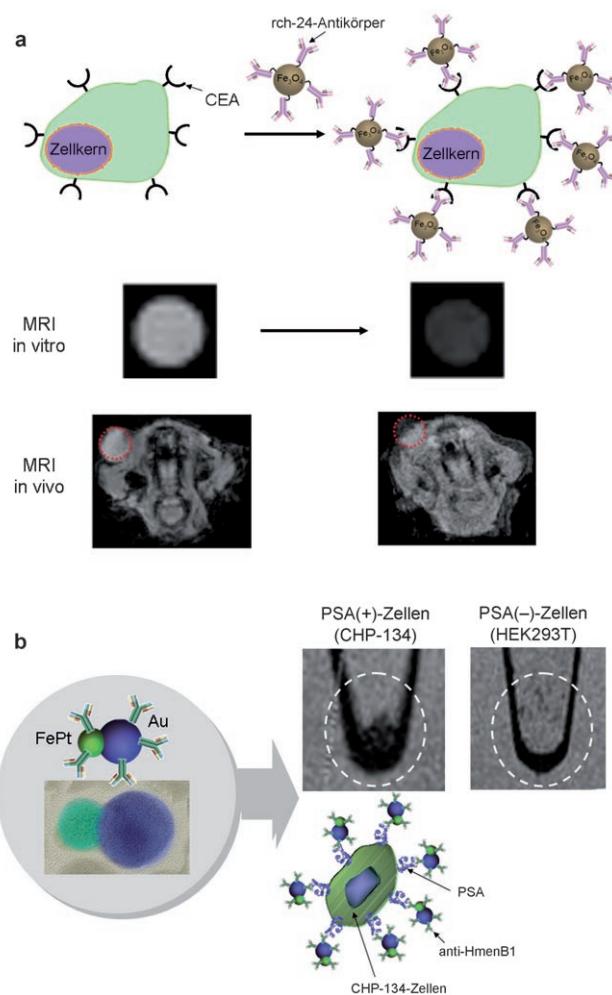


Abbildung 13. a) Kernspintomographischer Nachweis von CEA-positivem Darmkrebs durch Fe₃O₄/rch-24-Antikörper-Konjugate. Schema der molekularen Erkennung der Nanopartikel und der kernspintomographische Nachweis von Darmkrebs in vitro und in vivo (aus Lit. [83]). b) Kernspintomographischer Nachweis von Neuroblastom-Krebszellen (CHP-134) mit hantelförmigen FePt-Au/HmenB1-Antikörper-Konjugaten (aus Lit. [84]).

134) nachgewiesen, in denen Polysialinsäure (PSA) übermäßig stark exprimiert wird. Der Nachweis gelang anhand der dunkleren Farbe des betreffenden Gewebes in den Kernspintomographien, die durch die magnetischen FePt-Partikel hervorgerufen wird (Abbildung 13b).^[84]

3.2. Zellwanderung

Durch Kernspintomographie mit magnetischen Nanopartikeln als Sonden lässt sich die Migration von Zellen aufzeichnen. Dieses Verfahren könnte eine leistungsfähige Methode zur Ermittlung der gesamten Entwicklung von Zellen und zur Überprüfung zellbasierender Therapien werden. Über entsprechende Anwendungen von SPIO-Nanopartikeln zur Markierung von Transfektionsmitteln wurde bereits berichtet,^[85–88] auch neuartige Nanopartikel mit definiertem Magnetismus oder ausgewählten Liganden eignen sich aber

zur MRI-Untersuchung der Zellmigration. So wurden aus magnetischen FeCo-Nanopartikeln Sonden mit großer Kontrastwirkung erhalten ($r_2 = 644 \text{ mm}^{-1} \text{ s}^{-1}$), die ausgezeichnete kernspintomographische Aufnahmen von Zellen ermöglichen.^[39] Wurden mesenchymale Stammzellen (MSC) mit diesen Nanopartikeln kultiviert, war der Kontrast in den Aufnahmen mit Nanopartikeln markierter MSCs höher als bei Feridex-markierten Zellen (Abbildung 14).

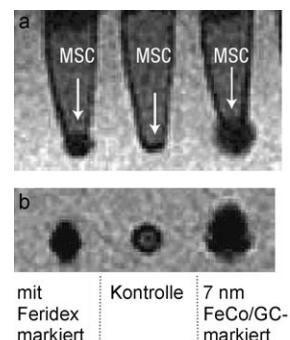


Abbildung 14. Kernspintomographien Feridex-markierter, unveränderter und mit FeCo-Nanopartikeln markierter mesenchymaler Stammzellen (MSC). a) Schrägsicht, b) Frontalsicht. Aus Lit. [39].

Fe₃O₄-MNP mit Liganden an der Oberfläche werden glatt in Zellen eingeschleust. Die Transfektionseffizienz von MNPs, die mit kationischen Liganden beschichtet waren, in neurale Stammzellen (NSC) ist in Gegenwart von (3-Carboxypropyl)trimethylammoniumchlorid viel größer als bei MNPs, die mit dem anionischen Liganden 2-Carboxyethylphosphonat oder Poly-L-lysin-Feridex beschichtet wurden (Abbildung 15a).^[42] Diese verbesserte Zelltransfektion ermöglicht die MRI-Aufzeichnung der Wanderung neuraler Stammzellen in vivo. Der Weg der Stammzellen entlang der Wirbelsäule ist in den Aufnahmen klar als dunkler Streifen erkennbar (Abbildung 15b).

3.3. Biologische Sicherheit magnetischer Nanopartikel

Die Verträglichkeit synthetischer MNPs muss vor der klinischen Anwendung zwingend geprüft werden. Gemäß früherer Toxizitätsuntersuchungen scheinen Eisenoxid-Nanopartikel biologisch unbedenklich zu sein.^[22, 89, 90] Diese Nanopartikel werden entweder durch die Einwirkung hydrolytischer Enzyme oder durch den niedrigen pH-Wert von Lysosomen in elementares Eisen überführt. Hohe Konzentrationen an Eisenionen im Zytosol können zwar zur Entstehung reaktiver Sauerstoffverbindungen führen, doch Ferritin- und Transferrin-Rezeptoren regulieren die Hämoxidase von Eisen,^[91] das gespeichert und anschließend in Hämoglobin eingebaut wird. Die neuartigen Eisenoxid-MNPs sind wie die üblichen Eisenoxid-Nanopartikel kaum toxisch. Für Fe₃O₄- und MnFe₂O₄-Nanopartikel gab es in mehreren Zelllinien bis zur höchsten untersuchten Konzentration von 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ keine Hinweise auf Zytotoxizität.^[38]

Magnetische Nanopartikel aus Legierungen wie FeCo und FePt können wegen der hohen Reaktivität von Co- und

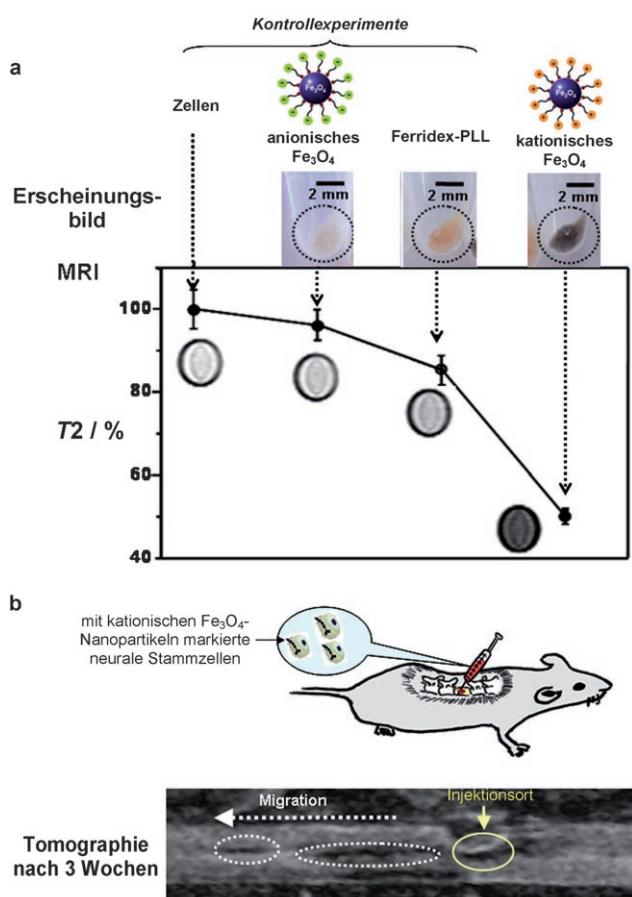


Abbildung 15. a) Einfluss der Liganden auf der Oberfläche von Fe_3O_4 -Nanopartikeln auf die Zellmarkierung und die Kontrastverstärkung in der Tomographie. Kationische Fe_3O_4 -Nanopartikeln verändern den Kontrast am stärksten. Ferridex-PLL ist ein konventioneller Zellmarker. b) In-vivo-Wanderung mit kationischen Fe_3O_4 -Nanopartikeln markierter neuraler Stammzellen (NSCs), die in die Wirbelsäule einer Maus injiziert wurden (aus Lit. [42]).

Pt-Ionen toxisch wirken. Dies lässt sich durch eine geeignete Beschichtung der Nanopartikel vermeiden. So verhindert ein dicker Graphitüberzug auf CoFe-Nanopartikeln das Herauslösen von Metallionen.^[39] Weder in vitro in Zellen noch in vivo in Kaninchen wurde eine akute Toxizität nachgewiesen.

Trotz dieser vielversprechenden Ergebnisse sind weitere systematische Untersuchungen zur Verteilung der neuartigen magnetischen Nanopartikel im Organismus, ihrer Ausscheidung (Body Clearance) und ihrer Langzeittoxizität erforderlich.^[92,93]

4. Multimodale molekulare Bildgebung mit magnetischen Hybridnanopartikeln

Hybride Nanopartikel sind multimodal. Dies legt die Möglichkeit multipler Bildgebungsverfahren (z.B. magnetisch und optisch) oder kombinierter Funktionen nahe (z.B. Bildgebung und Therapie). Beispielsweise konnten MNPs mit analytischen oder therapeutischen Nanopartikeln zu multimodalen Sonden für biomedizinische Anwendungen kombiniert werden. So wurde über „Kern-Satelliten“- Hybridnanopartikel aus einem farbstoffdotierten Siliciumdioxid-Kern (Dye-SiO_2) und mehreren Fe_3O_4 -Nanopartikeln berichtet.^[94] Aufgrund kooperativer magnetischer Wechselwirkungen zwischen den gekoppelten Nanopartikeln ist der Kontrasteffekt dieser Sonden um den Faktor 3.4 größer als bei den isolierten Nanopartikeln (Abbildung 16a). Mit Nanopartikel-Konjugaten des HmenB1-Antikörpers, der spezifisch an Polysialinsäure bindet, werden PSA-positive Zellen (CHP-134) in Kernspintomographien dunkel wiedergegeben und sind anhand dieses Kontrasts nachweisbar (Abbildung 16b). Zusätzlich tritt in den Membranbereichen der CHP-134-Zellen eine intensive rote Fluoreszenz auf (Abbildung 16c).^[95] Dies deutet auf Vorteile der dualen Bildgebung bei der Gewinnung sowohl makroskopischer (z.B. MRI-Aufnahmen) als auch mikroskopischer, subzellulärer (z.B. optischer) Informationen über biologische Vorgänge hin.

Neben ihrer Eignung für die Kernspintomographie können Legierungs-MNPs auch einen therapeutischen Nutzen aufweisen. Werden beispielsweise FePt@CoS_2 -Nanopartikel mit HeLa-Zellen in Kontakt gebracht, nimmt die Mortalität der Zellen drastisch zu.^[96] Nach der Aufnahme von FePt@CoS_2 in die Zellen werden Platinatome oxidiert und die Pt^{2+} -Ionen wegen des niedrigen pH-Werts in den Zellen (ca. 5.5) freigesetzt. Dies führt zu DNA-Schäden und zu einer Apoptose. Die zytotoxische Wirkung von FePt@CoS_2 wird

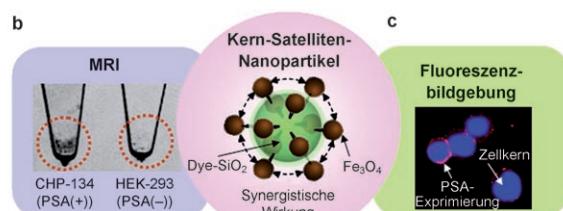
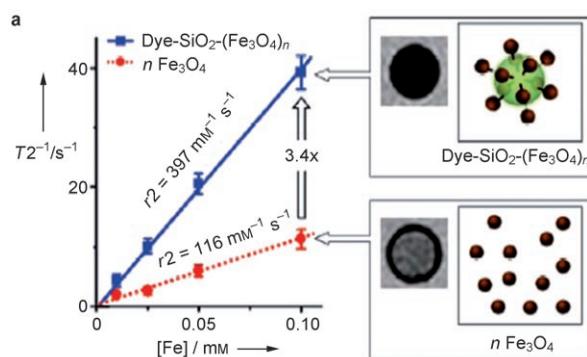


Abbildung 16. Hybridnanopartikel aus Fe_3O_4 und farbstoffdotiertem Siliciumdioxid (Dye-SiO_2) für Kernspintomographie/Fluoreszenz-Doppelauflnahmen von Neuroblastomen. a) Erhöhte Kontrastverstärkung durch Nanopartikel mit Dye-SiO_2 -Kern und $(\text{Fe}_3\text{O}_4)_n$ -Satelliten in Tomographien und ihre Anwendung beim Doppelnachweis von Neuroblastomen exprimierter Polysialinsäure (PSA, aus Lit. [94]): b) kernspintomographisch; c) durch Fluoreszenz.

durch Veränderungen der Zellmorphologie und die dosisabhängige Vitalität der Zellen bestätigt (Abbildung 17 a).

$\text{SiO}_2@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Au}$ -Hybridnanopartikel können für die molekulare Kernspintomographie und Krebstherapie eingesetzt werden (Abbildung 17b).^[97] Nach Kupplung mit anti-HER2/neu-Antikörpern und anschließender Einwirkung auf Brustkrebszellen erscheinen die Zellen in einer *T2*-gewichteten MRI-Aufnahme dunkel, die Antikörper gelangten also ans Ziel. Bei Bestrahlung mit einem Dauerstrichlaser werden die anvisierten Zellen durch die hyperthermische Wirkung der Goldschicht abgetötet.

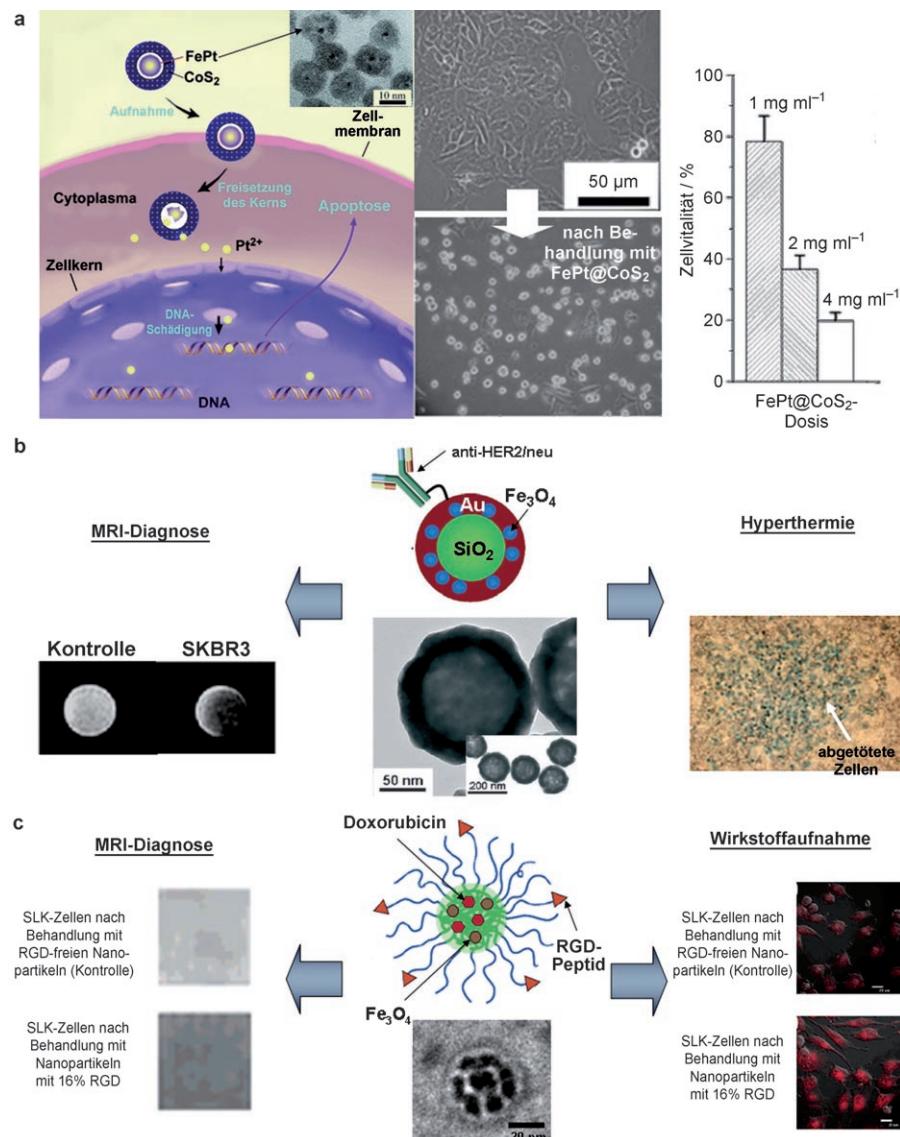


Abbildung 17. a) Therapeutische Anwendung von $\text{FePt}@\text{CoS}_2$ -Hybridnanopartikeln. Links: Letale Wirkung der Hybrid-MNPs auf Zellen (Schema); Mitte: optischer Nachweis morphologischer Veränderungen in unbehandelten und mit den Nanopartikeln in Kontakt gebrachten HeLa-Zellen; rechts: dosisabhängige Zellvitalität (aus Lit. [96]). b) Hybridnanopartikel aus $\text{SiO}_2@\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{Au}$ und anti-HER2/neu-Antikörpern zur kernspintomographischen Diagnose und gleichzeitigen Laser-Hyperthermiebehandlung (aus Lit. [97]). c) Hybridnanomicellen aus Eisenoxid-MNPs, Doxorubicin und dem Peptid RGD zum kernspintomographischen Nachweis und zur Therapie Blutgefäße bildender Zellen, in denen $\alpha_1\beta_3$ -Integrin zu stark exprimiert wird. Fluoreszenzbilder von Zellen mit Micellen, die kein RGD-Peptid (Kontrolle) und 16% RGD-Peptid enthalten, deuten auf einen effizienten Wirkstofftransport hin (aus Lit. [40]). RGD = Arg-Gly-Asp.

Der Einschluss therapeutischer Wirkstoffe und Nanopartikel in polymeren Micellen ermöglicht eine gleichzeitige Diagnose und Therapie. Es wurden Micellen hergestellt, die Nanopartikel, Doxorubicin und das Tripeptid Arg-Gly-Asp (RGD) enthalten. Letzteres ist ein Vektor, der an $\alpha_1\beta_3$ -Integrin bindet, das bei der Angiogenese auftritt. Wurden die Micellen in Kontakt mit Endothelzellen gebracht, waren diese kernspintomographisch nachweisbar, und es traten eindeutig therapeutische Effekte auf (Abbildung 17c).^[40]

5. Schlussfolgerungen

Die neuartigen synthetischen Nanopartikel mit definierter Größe und Zusammensetzung und definiertem Magnetismus und Oberflächenzustand sind nicht nur wertvoll für die Kontrastverstärkung in kernspintomographischen Aufnahmen. Vielmehr weisen sie als Kolloide auch eine hohe Stabilität auf, und sie können gezielt biologische Gewebe ansteuern. Obwohl die Entwicklung dieser Nanopartikel noch am Anfang steht, ist das Potenzial für erhebliche Fortschritte bei der biomedizinischen Bildgebung offenkundig. So könnten maßgeschneiderte MNP-Sonden eines Tages die In-vivo-Diagnose der Frühstadien zahlreicher Erkrankungen ermöglichen oder die Aufklärung der biologischen Vorgänge bei der Krebsentstehung, Metastasenbildung, Zellentwicklung und bei Wechselwirkungen zwischen Zellen erleichtern.

Wir danken Mi-yun Kim für ihren Beitrag zur Erstellung dieses Manuskripts. Diese Arbeit wurde durch das National Research Laboratory (M10600000255), NCRC (R15-2004-024-02002-0), das NCI Center for Cancer Nanotechnology Excellence (CCNE), das Nano/Bio Science & Technology Program (M10503000218-05M0300-21810), AFOSR (FA4869-07-1-4016), das Korea Research Council of Fundamental Science and Technology und die zweite Stufe des BK21 for Chemistry gefördert.

Eingegangen am 16. April 2007

Übersetzt von Dr. Jürgen Eckwert, Seeheim-Jugenheim

- [1] T. F. Massoud, S. S. Gambhir, *Gene. Dev.* **2003**, *17*, 545–580.
- [2] K. Shah, A. Jacobs, X. O. Breakefield, R. Weissleder, *Gene Ther.* **2004**, *11*, 1175–1187.
- [3] D. G. Mitchell, *MR Principles*, W. B. Saunders Company, Philadelphia, **1999**.
- [4] A. P. Alivisatos, *Nat. Biotechnol.* **2004**, *22*, 47–52.
- [5] X. Michalet, F. F. Pinaud, L. A. Bentolila, J. M. Tsay, S. Doose, J. J. Li, G. Sundaresan, A. M. Wu, S. S. Gambhir, S. Weiss, *Science* **2005**, *307*, 538–544.
- [6] I. L. Medintz, H. T. Uyeda, E. R. Goldman, H. Mattoussi, *Nat. Mater.* **2005**, *4*, 435–446.
- [7] R. Weissleder, A. S. Lee, A. J. Fischman, P. Reimer, T. Shen, R. Wilkinson, R. J. Callahan, T. J. Brady, *Radiology* **1991**, *181*, 245–249.
- [8] J. W. M. Bulte, D. L. Kraitchman, *NMR Biomed.* **2004**, *17*, 484–499.
- [9] C. A. Mirkin, C. M. Niemeyer, *Nanobiotechnology II: More Concepts and Applications*, Wiley-VCH, Weinheim, **2007**.
- [10] W. Li, F. C. Szoka, Jr., *Pharm. Res.* **2007**, *24*, 438–449.
- [11] M. C. Garnett, P. Kallinteri, *Occup. Med.* **2006**, *56*, 307–311.
- [12] X. Wu, H. Liu, J. Liu, K. N. Haley, J. A. Treadway, J. P. Larson, N. Ge, F. Peale, M. P. Bruchez, *Nat. Biotechnol.* **2003**, *21*, 41–46.
- [13] X. Gao, Y. Cui, R. M. Levenson, L. W. K. Chung, S. Nie, *Nat. Biotechnol.* **2004**, *22*, 969–976.
- [14] L. He, M. D. Musick, S. R. Nicewarner, F. G. Salinas, S. J. Benkovic, M. J. Natan, C. D. Keating, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9071–9077.
- [15] Y. W. C. Cao, R. C. Jin, C. A. Mirkin, *Science* **2002**, *297*, 1536–1540.
- [16] R. Elghanian, J. J. Storhoff, R. C. Mucic, R. L. Letsinger, C. A. Mirkin, *Science* **1997**, *277*, 1078–1081.
- [17] C. Sönnichsen, B. M. Reinhard, J. Liphardt, A. P. Alivisatos, *Nat. Biotechnol.* **2005**, *23*, 741–745.
- [18] M. Y. Han, X. H. Gao, J. Z. Su, S. Nie, *Nat. Biotechnol.* **2001**, *19*, 631–635.
- [19] A. A. Chen, A. A. Derfus, S. R. Khetani, S. N. Bhatia, *Nucleic Acids Res.* **2005**, *33*, e190.
- [20] Z. Medarova, W. Pham, C. Farrar, V. Petkova, A. Moore, *Nat. Med.* **2007**, *13*, 372–377.
- [21] R. Weissleder, A. Moore, U. Mahmood, R. Bhorade, H. Benveniste, E. A. Chiocca, J. P. Basilion, *Nat. Med.* **2000**, *6*, 351–354.
- [22] Y.-X. J. Wang, S. M. Hussain, G. P. Krestin, *Eur. Radiol.* **2001**, *11*, 2319–2331.
- [23] M. F. Bellin, *Eur. J. Radiol.* **2006**, *60*, 314–323.
- [24] M. Zhao, D. A. Beauregard, L. Loizou, B. Davletov, K. M. Brindle, *Nat. Med.* **2001**, *7*, 1241–1244.
- [25] J. Rockenberger, E. C. Sher, A. P. Alivisatos, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11595–11596.
- [26] S. H. Sun, H. Zeng, D. B. Robinson, S. Raoux, P. M. Rice, S. X. Wang, G. X. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 273–279.
- [27] T. Hyeon, *Chem. Commun.* **2003**, 927–934.
- [28] J. Park, K. An, Y. Hwang, J.-G. Park, H.-J. Noh, J.-Y. Kim, J.-H. Park, N.-M. Hwang, T. Hyeon, *Nat. Mater.* **2004**, *3*, 891–895.
- [29] N. R. Jana, Y. Chen, X. Peng, *Chem. Mater.* **2004**, *16*, 3931–3935.
- [30] Y. Jun, J. Choi, J. Cheon, *Chem. Commun.* **2007**, 1203–1214.
- [31] J. Cheon, N.-J. Kang, S.-M. Lee, J.-H. Yoon, S. J. Oh, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 1950–1951.
- [32] A.-H. Lu, E. L. Salabas, F. Schüth, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 1242–1266; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1222–1244.
- [33] E. V. Shevchenko, D. V. Talapin, A. L. Rogach, A. Kornowski, M. Haase, H. Weller, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11480–11485.
- [34] J. B. Tracy, D. N. Weiss, D. P. Dinega, M. G. Bawendi, *Phys. Rev. B* **2005**, *72*, 064404.
- [35] S. Sun, *Adv. Mater.* **2006**, *18*, 393–403.
- [36] V. F. Puntes, K. M. Krishnan, A. P. Alivisatos, *Science* **2001**, *291*, 2115–2117.
- [37] Y. Jun, Y.-M. Huh, J.-s. Choi, J.-H. Lee, H.-T. Song, S. J. Kim, S. Yoon, K.-S. Kim, J.-S. Shin, J.-S. Suh, J. Cheon, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 5732–5733.
- [38] J.-H. Lee, Y.-M. Huh, Y.-w. Jun, J.-w. Seo, J.-t. Jang, H.-T. Song, S. Kim, E.-J. Cho, H.-G. Yoon, J.-S. Suh, J. Cheon, *Nat. Med.* **2007**, *13*, 95–99.
- [39] W. S. Seo, J. H. Lee, X. Sun, Y. Suzuki, D. Mann, Z. Liu, M. Terashima, P. C. Yang, M. V. McConnell, D. G. Nishimura, H. Dai, *Nat. Mater.* **2006**, *5*, 971–976.
- [40] N. Nasongkla, E. Bey, J. Ren, H. Ai, C. Khemtong, J. S. Guthi, S.-F. Chin, A. D. Sherry, D. A. Boothman, J. Gao, *Nano Lett.* **2006**, *6*, 2427–2430.
- [41] Y.-M. Huh, Y. Jun, H.-T. Song, S. J. Kim, J.-s. Choi, J.-H. Lee, S. Yoon, K.-S. Kim, J.-S. Shin, J.-S. Suh, J. Cheon, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 12387–12391.
- [42] H.-T. Song, J.-s. Choi, Y.-M. Huh, S. Kim, Y.-w. Jun, J.-S. Suh, J. Cheon, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 9992–9993.
- [43] S. H. Koenig, K. E. Keller, *Magn. Reson. Med.* **1995**, *34*, 227–233.
- [44] J. Park, J. Joo, S. G. Kwon, Y. Jang, T. Hyeon, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 4714–4745; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4630–4660.
- [45] C. B. Murray, C. R. Kagan, M. G. Bawendi, *Annu. Rev. Mater. Sci.* **2000**, *30*, 545–610.
- [46] T. Vossmeier, L. Katsikas, M. Giersig, I. G. Popovic, K. Diesner, A. Chemseddine, A. Eychmüller, H. Weller, *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 7665–7673.
- [47] Y. Jun, J.-H. Lee, J.-s. Choi, J. Cheon, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 14795–14806.
- [48] Y. Jun, J.-s. Choi, J. Cheon, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 3492–3517; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3414–3439.
- [49] M. P. Morales, S. Veintemillas-Verdaguer, M. I. Montero, C. J. Serna, *Chem. Mater.* **1999**, *11*, 3058–3064.
- [50] R. A. McCurrie, *Ferromagnetic Materials: Structure and Properties*, Academic Press, San Diego, **1994**.
- [51] R. Weissleder, D. D. Stark, B. L. Engelstad, B. R. Bacon, C. C. Compton, D. L. White, P. Jacobs, J. Lewis, *Am. J. Roentgenol.* **1989**, *152*, 167–173.
- [52] P. Reimer, E. J. Rummery, H. E. Daldrup, T. Balzer, B. Tombach, T. Berns, P. E. Peters, *Radiology* **1995**, *195*, 489–496.
- [53] C. W. Jung, P. Jacobs, *Magn. Reson. Imaging* **1995**, *13*, 661–674.
- [54] L. Josephson, C.-H. Tung, A. Moore, R. Weissleder, *Bioconjugate Chem.* **1999**, *10*, 186–191.
- [55] J.-I. Park, J. Cheon, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5743–5746.
- [56] B. D. Cullity, *Introduction to Magnetic Materials*, Addison-Wesley Publishing, Philippinen, **1972**.
- [57] S. Trattnig, K. Pinker, A. Ba-Salamah, I. M. Nobauer-Huhmann, *Eur. Radiol.* **2006**, *16*, 1280–1287.
- [58] G. J. Strijkers, W. J. Mulder, G. A. Van Tilborg, K. Nicolay, *Anti-Cancer Agents Med. Chem.* **2007**, *7*, 291–305.
- [59] A. Tanimoto, S. Kuribayashi, *Eur. J. Radiol.* **2006**, *58*, 200–216.
- [60] A. K. Gupta, S. Wells, *IEEE Trans. Nanobiosci.* **2004**, *3*, 66–73.
- [61] J. A. Firth, *J. Anat.* **2002**, *200*, 541–548.
- [62] A. Hirano, T. Matsui, *Hum. Pathol.* **1975**, *6*, 611–621.
- [63] Q. Liu, Z. Xu, *Langmuir* **1995**, *11*, 4617–4622.
- [64] A. B. Bourlinos, A. Bakandritos, V. Georgakilas, D. Petridis, *Chem. Mater.* **2002**, *14*, 3226–3228.
- [65] V. Salgueirino-Maceira, L. M. Liz-Marzan, M. Farle, *Langmuir* **2004**, *20*, 6946–6950.
- [66] R. Hong, N. O. Fischer, T. Emrick, V. M. Rotello, *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 4617–4621.
- [67] S. Peng, C. Wang, J. Xie, S. Sun, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 10676–10677.
- [68] A. H. Latham, M. E. Williams, *Langmuir* **2006**, *22*, 4319–4326.
- [69] J. Xie, C. Xu, Z. Xu, Y. Hou, K. L. Young, S. X. Wang, N. Pourmand, S. Sun, *Chem. Mater.* **2006**, *18*, 5401–5403.

- [70] S.-W. Kim, S. Kim, J. B. Tracy, A. Jasanoff, M. G. Bawendi, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4556–4557.
- [71] D. K. Yi, S. T. Selvan, S. S. Lee, G. C. Papaefthymiou, D. Kundaliya, J. Y. Ying, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 4990–4991.
- [72] D. K. Yi, S. S. Lee, G. C. Papaefthymiou, J. Y. Ying, *Chem. Mater.* **2006**, *18*, 614–619.
- [73] N. Kohler, G. E. Fryxell, M. Zhang, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7206–7211.
- [74] D. B. Robinson, H. H. J. Persson, H. Zeng, G. Li, N. Pourmand, S. Sun, S. X. Wang, *Langmuir* **2005**, *21*, 3096–3103.
- [75] N. Nitin, L. E. LaConte, O. Zurkiya, X. Hu, G. Bao, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2004**, *9*, 706–712.
- [76] W. W. Yu, E. Chang, C. M. Sayes, R. Drezek, V. L. Colvin, *Nanotechnology* **2006**, *17*, 4483–4487.
- [77] B.-S. Kim, J.-M. Oiu, J.-P. Wang, T. A. Taton, *Nano Lett.* **2005**, *5*, 1987–1991.
- [78] B. Ceyhan, P. Alhorn, C. Lang, D. Schuler, C. M. Niemeyer, *Small* **2006**, *2*, 1251–1255.
- [79] S. G. Grancharov, H. Zeng, S. Sun, S. X. Wang, S. O'Brien, C. B. Murray, J. R. Kirtley, G. A. Held, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 13030–13035.
- [80] R. DePalma, S. Peeters, M. J. van Bael, H. V. den Rul, K. Bonroy, W. Laureyn, J. Mullens, G. Borghs, G. Maes, *Chem. Mater.* **2007**, *19*, 1821–1831.
- [81] American Cancer Society, *Cancer Facts*, American Cancer Society, Atlanta, **2005**.
- [82] D. Vernimmen, M. Gueders, S. Pisvin, P. Delvenne, R. Winkler, *Br. J. Cancer* **2003**, *89*, 899–906.
- [83] F. Hu, L. Wei, Z. Zhou, Y. Ran, Z. Li, M. Gao, *Adv. Mater.* **2006**, *18*, 2553–2556.
- [84] J.-s. Choi, Y.-w. Jun, S.-I. Yeon, H. C. Kim, J.-S. Shin, J. Cheon, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15982–15983.
- [85] S. Miyoshi, J. A. Flexman, D. J. Cross, K. R. Maravilla, Y. Kim, Y. Anzai, J. Oshima, S. Minoshima, *Mol. Imaging Biol.* **2006**, *7*, 286–195.
- [86] P. Smirnov, E. Lavergne, F. Gazeau, M. Lewin, A. Boissonnas, B. T. Doan, B. Gillet, C. Combadiere, B. Combadiere, O. Clement, *Magn. Reson. Med.* **2006**, *56*, 498–508.
- [87] J. A. Frank, B. R. Miller, A. S. Arbab, H. A. Zywicki, E. K. Jordan, B. K. Lewis, L. H. Bryant Jr., J. W. Bulte, *Radiology* **2003**, *228*, 480–487.
- [88] A. S. Arbab, G. T. Yocom, L. B. Wilson, A. Parwana, E. K. Jordan, H. Kalish, J. A. Frank, *Mol. Imaging* **2004**, *3*, 24–32.
- [89] C. Kumar, *Nanomaterials for Cancer Diagnosis*, Wiley-VCH, Weinheim, **2007**.
- [90] R. Lawrence, *PDA J. Pharm. Sci. Technol.* **1998**, *52*, 190–198.
- [91] E. C. Theil, *J. Nutr.* **2003**, *133*, 1649S–1655S.
- [92] A. Nel, *Science* **2005**, *308*, 804–806.
- [93] A. D. Maynard, *Nanotoday* **2006**, *1*, 22–33.
- [94] J.-H. Lee, Y.-w. Jun, S.-I. Yeon, J.-S. Shin, J. Cheon, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 8340–8342; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 8160–8162.
- [95] U. Rutishauser, M. Watanabe, J. Silver, F. A. Troy, E. R. Vimr, *J. Cell Biol.* **1985**, *101*, 1842–1849.
- [96] J. Gao, G. Liang, B. Zhang, Y. Kuang, X. Zhang, B. Xu, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 1428–1433.
- [97] J. Kim, J. E. Lee, J. Lee, Y. Jang, S. W. Kim, K. An, J. H. Yu, T. Hyeon, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 4907–4911; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4789–4793.